

EFFECTO DEL DMSO SOBRE LA ABSORCION DEL HIERRO EN EL CAFETO

Tesis de Grado de Magister *Scientiae*

ANTONIO ZUMBADO ZUMBADO



**INSTITUTO INTERAMERICANO DE CIENCIAS AGRICOLAS DE LA OEA
Centro de Enseñanza e Investigación
Departamento de Fitotecnia y Suelos
Turrialba, Cofia Rica**

Junio, 1970

A mi **esposa e** hijo

A mi familia

A **mis** hermanos

AGRADECIMIENTO

El autor desea expresar su agradecimiento al **Dr.** Ludwig Muller, Consejero Principal por su acertada orientación.

Se hace extensivo este agradecimiento a **los** demás miembros del Comité Consejero, **Dr. H. Fasbender**, **Dr. Rodrigo Gámez** **y** al Ingeniero **Adalberto Gorbitz**.

A todos **los** profesores, colegas **y** amigos que en una u otra forma contribuyeron a la realización de este trabajo.

También se dan las más expresivas gracias a la Crown Zellerbach Corporation, casa fabricante del dimetil sulfóxido, por haber cedido gratuitamente dicho producto para su utilización en este trabajo.

BIOGRAFIA

El autor es de nacionalidad costarricense. Nació en la ciudad de San **José**, Costa Rica en el año de **1941**.

Realizó **sus** estudios universitarios en la Universidad de Costa Rica, graduándose de Ingeniero Agrónomo en el año de **1965**.

De Enero de **1966** a Setiembre de **1967**, trabajó en el Plan Cooperativo Ministerio de Agricultura y Ganadería - Oficina del Café en el Combate de Plagas del Café. Posteriormente y por espacio de **10** meses desempeñó el puesto de Perito Agrícola en el Banco Nacional de Costa Rica.

Ingresó a la Escuela de Graduados del Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA en Octubre de **1968**, finalizando sus estudios en mayo de **1970**.

CONTENIDO

	<u>Página</u>
LISTA DE CUADROS.....	V
LISTA DE FIGURAS.....	VII
INTRODUCCION.....	1
REVISION DE LITERATURA.....	3
Papel del hierro en la planta.....	3
Factores que afectan la disponibilidad del hierro en la planta.....	4
La deficiencia del hierro en el cafeto.....	7
El dimetil sulfóxido (DMSO).....	9
MATERIALES Y METODOS.....	17
Pruebas preliminares.....	17
Experimento de campo.....	18
Experimento de invernadero.....	19
Preparación de las muestras vegetales.....	22
Métodos de análisis químico de las muestras vegetales.,	23
Técnicas empleadas para la interpretación de los resul- tados.....	25
RESULTADOS.....	26
Experimento de campo.....	26
Hierro soluble.....	26
Hierro total.....	28
Contenido de clorofilas.....	31

	<u>Página</u>
Experimento de invernadero.	31
Hierro soluble.....	32
Hierro total.....	34
Contenido de clorofilas.....	35
DISCUSION.....	41
Experimento de campo.....	41
Experimento de invernadero.....	43
Hierro total y contenido de clorofilas de las hojas. Ex-	
CONCLUSIONES.....	47
RESUMEN.....	48
SUMMARY.....	50
LITERATURA CITADA.....	52
APENDICE.....	59

LISTA DE CUADROS

<u>Cuadro</u>	<u>Página</u>
1 Identificación de los tratamientos del experimento "c campo.	18
2 Identificación de los tratamientos del experimento de invernadero..	21
3 Contenido de hierro soluble de las hojas en materia fresca, expresado en ppm. Experimento de campo.....	26
4 Análisis de la variación de hierro soluble, hierro total y contenido de clorofilas de las hojas. Ex- perimento de campo	21
5 Contenido de hierro total de las hojas, en materia seca, expresado en ppm. Experimento de campo.	28
6 Contenido de clorofilas de las hojas, expresado co mo porcentajes. Experimento de campo.....	31
7 Hierro soluble de las hojas, en materia fresca, ex presado en ppm. Experimento de invernadero.....	32
8 Análisis de la variación de hierro soluble, hierro total y contenido de clorofilas de las hojas. Ex- perimento de invernadero.....	33
9 Hierro total de las hojas, en materia seca, expresa do en ppm. Experimento de invernadero..	34
10 Contenido de clorofilas de las hojas, expresado co mo porcentaje. Experimento de invernadero.....	37

<u>Cuadro</u>	<u>Página</u>
11 Prueba de Duncan del contenido de hierro total de las hojas. Experimento de campo.....	60
12 Prueba de Duncan de los contenidos de hierro total y clorofilas. Experimento de invernadero.....	61
13 Datos meteorológicos. Observatorio de Turrial- ba. Mes de diciembre de 1969..	62
14 Datos meteorológicos. Observatorio de Turrial- ba. Mes de enero de 1970..	63
15 Datos meteorológicos. observatorio de Turrial- ba. Mes de febrero de 1970 ..	64

LISTA DE FIGURAS

<u>Figura</u>		<u>Página</u>
1	Efecto de los diferentes tratamientos en el contenido de hierro total de las hojas. Experimento de campo....	30
2	Efecto de los diferentes tratamientos en el contenido de hierro total de las plantas tratadas. Experimento de invernadero...	36
3	Efecto de los diferentes tratamientos en el contenido de clorofilas de las plantas tratadas. Experimento de invernadero.....	38
4	Cafeto deficiente en hierro (Testigo). Se notan las hojas jóvenes completamente cloróticas.....	40
5	Cafeto unos veinte días después de recibir el tratamiento 1 (Sulfato de hierro, 500 ppm + 2% DMSO). Se nota la corrección parcial (moteado) de la clorosis en las hojas jóvenes.....	40

INTRODUCCION

El cultivo del café constituye para muchos países tropicales la principal fuente de sus ingresos económicos. Debido al papel mundial que juega, se le ha sometido a una continua investigación para obtener los mayores rendimientos por área sembrada. Uno de los aspectos principales del cultivo intensivo lo constituye la nutrición mineral. Ya se han encontrado métodos y materiales que solucionan muchos de los problemas que se presentan en esta índole, si se hace excepción del hierro.

Este elemento por ser esencial cumple funciones vitales en el metabolismo vegetal y al faltar o no existir en cantidades adecuadas para la planta, produce una serie de problemas metabólicos, que inciden sobre la calidad y cantidad de sus cosechas.

La carencia o no disponibilidad del hierro para el café se manifiesta a través de una clorosis bien típica. Con el fin de corregirla se han intentado aplicaciones foliares, aplicaciones al suelo, etc., de distintos compuestos a base de hierro. Sin embargo, no se obtuvieron resultados satisfactorios, ya sea porque el hierro no es fácilmente absorbido a través de la lámina foliar, es fijado con prontitud en los suelos, no se traslada dentro de la planta o los métodos y materiales empleados no son económicos.

Perspectivas como las anteriores se presentan también en otros cultivos importantes, como cítricos y aguacates en Florida (40,44). Leonard (40) y Malo (44), estudiando respectivamente el problema de **la clorosis** de hierro en cítricos y aguacate, utilizaron un compuesto químico derivado de la **lignina** que posee **propiedades** solventes y penetrantes poco usuales. **Al** mezclarlo con **compuestos** a base de hierro, lograron buenos resultados en la solución al problema en cuestión. Este producto es el **dimetil sulfóxido**, que se abrevia como DMSO.

El propósito de este trabajo fue corregir la deficiencia de hierro en el cafeto, por medio de aplicaciones **foliares**, siendo **el** objetivo principal la evaluación del **dimetil sulfóxido** como agente penetrante y de transporte para el hierro aplicado.

REVISION DE LITERATURA

El papel del hierro en la planta.

Es bien conocido por todos los investigadores dedicados a la nutrición mineral la esencialidad del hierro para el crecimiento de las plantas, por sus múltiples funciones que desempeña en el metabolismo (23, 45).

Parece jugar un importante papel en la formación de la clorofila, aunque ella misma no lo contiene. En numerosos estudios efectuados se comprobó que en los cloroplastos se localiza el mayor porcentaje del hierro de la planta; en el caso de la espinaca un 82 por ciento del hierro total se encuentra en estos plastidios (2, 58).

Marsh et al (45) dedujeron de sus investigaciones que el hierro es requerido en la síntesis del ácido alfa-amino levulónico, que interviene en los primeros pasos de la síntesis de las porfirinas. Resultados similares obtuvieron Burnham y Lascelles (9) con respecto al ácido alfa-amino levulónico en Vigna sinensis.

Van Noort y Wallace (75) indicaron que el hierro regula la síntesis de un tipo de ácido ribonucleico el cual está involucrado en la producción de una enzima que a su vez funciona en la síntesis de la clorofila. **Pero** a pesar de todo lo investigado, toda-

vía continúa confuso y oscuro el papel específico del hierro en la formación de la clorofila.

Dependiendo del pH del medio, las sales inorgánicas del hierro poseen las propiedades de una oxidasa y de un transportador de electrones, pero su capacidad para funcionar como una catalasa o peroxidasa es muy ligera (23). Al incorporarse el hierro en el anillo de profirina, las actividades de la catalasa y peroxidasa aumentan (6). La importancia de las enzimas conteniendo hierro en la respiración se ha establecido claramente. La mayoría de las células vegetales y animales contienen los citocromos (22) que con enzimas porfirínicas de hierro. Algunos de estos citocromos son oxidasas y funcionan como activadores del oxígeno atmosférico, convirtiéndolo en un fuerte aceptor de electrones, mientras que otros citocromos actúan como transportadores de electrones (6).

Revisiones más completas concernientes al papel del hierro en la nutrición mineral se encuentran en Brown (6) y Price (58).

Factores que afectan la disponibilidad del hierro.

La clorosis debida a la falta de hierro se produce en plantas creciendo tanto en suelos calcáreos como en suelos ácidos.

Reuther y Smith (60) y Specht (70) basándose en sus estudios de invernadero y campo concluyeron que la clorosis debida a suelos ácidos en cítricos puede ser causada en muchos casos por

altas concentraciones de metales pesados asimilables, especialmente el cobre en relación al hierro disponible en el suelo.

Pero la incidencia mayor de la deficiencia de hierro en plantas ocurre en **los** suelos alcalino-calcareos. Para explicar la relación de **los** hechos observados para la ocurrencia de esta clorosis Thorne et al. (74) discutieron las siguientes causas hipotéticas:

1. Altos valores de pH y excesivas cantidades de calcio inciden sobre el hierro del suelo haciéndolo menos disponible para las plantas.
2. Alta humedad del suelo, pobre aereación y bajas temperaturas afectan el metabolismo vegetal de tal manera que el hierro es inactivado (7).
3. **Los** fosfatos pueden precipitar el hierro tanto en el suelo como en **los** tejidos vegetales, volviéndolo insoluble (7).
4. Alto contenido de manganeso en el suelo o en las plantas puede oxidar el hierro a un estado inactivo (71).

Esta lista de hipótesis puede ser modificada con el concepto de que especies vegetales y variedades pueden diferir en su susceptibilidad para la clorosis de hierro con cada uno de **los** siguientes factores: el ión bicarbonato; macronutrientes; factores ambien-

tales y disponibilidad del hierro en **el** medio de crecimiento.

Así la clorosis debida a la falta de hierro inducida por el ión bicarbonato ha recibido considerable atención desde que Harley y Linder (24) trabajando con árboles de manzano y peral irrigados con agua de diferentes concentraciones del ión bicarbonato encontraron una clorosis en grado variable asociada siempre con los suelos que contenía el ión bicarbonato. Wadleygh y Brown (76) encontraron que 8 miliequivalentes de bicarbonato de sodio por litro de solución nutritiva produjo clorosis y redujo el crecimiento de Phaseolus vulgaris L. en más de un tercio. Esto fue atribuido a que el ión bicarbonato disminuye la disponibilidad del hierro en la superficie radical.

Lindsay y Thorne (41) postularon que la clorosis asociada con una inadecuada aereación, se debe a que **al** elevarse **los** niveles de dióxido de carbono, se da lugar a la formación del ión bicarbonato. De Kock (14) llegó a las mismas conclusiones de los autores anteriores al trabajar con Sinapis alba. Porter y Thorne (57), manteniendo el pH constante mediante la variación del contenido de dióxido de carbono del aire del medio, **y** con incrementos de las concentraciones de NaHCO_3 lograron disminuir **las** síntesis y contenido de clorofilas en plantas de frijol y tomate.

Kliman (37) creyó que las plantas absorben y utilizan **el** hierro solamente como ión ferroso; pero una vez dentro de la plan-

ta el hierro puede ser acumulado en forma insoluble (férico) si el pH del jugo celular es elevado (64). También la inmovilidad puede deberse a la formación de fosfato de hierro (4). Igue (30) trabajando con café, anotó que la concentración de fósforo afectó la reutilización y el traslado del hierro. A similares conclusiones llegó también Alvarez (1).

Bolle-Jones (5) observó que las plantas de papa, creciendo en un medio de bajos niveles de hierro, llegaron a estar cloróticas en la presencia de carbonato de calcio o cuando el potasio fue deficiente. Esta deficiencia fue corregida en cada caso con la adición de altos niveles de potasio, el cual aparentemente aumentó la utilización del hierro, en la formación de la clorofila.

La deficiencia de hierro en el cafeto.

La deficiencia de hierro en el cafeto ha sido reportada en casi todos los países productores (12, 20, 42, 47, 48, 54, 62 y 73).

El cafeto requiere una dosis adecuada de hierro para su normal desarrollo, de lo contrario se producen trastornos en el metabolismo de la planta, con la aparición de la clorosis típica y otros síntomas (68, 46, 13). La clorosis debida a la insuficiencia de hierro en el cafeto se caracteriza por un amarillamiento del parénquima de la lámina foliar, colaboración que varía según la intensidad de la deficiencia. Toda la nervadura, incluyendo las más pequeñas, permanecen verdes, dando un efecto de reticulado que se destaca so

bre un fondo clorótico (48). Además con la carencia de hierro se asocia la incidencia de granos ámbar, conocidos también como "amber", "marly" o "waxbeans". Sylvain (73) y Robinson (62) reportaron estas anomalías en granos en Jamaica y Kenya respectivamente, en intensidades hasta de un 30%, con lo cual se afecta seriamente la calidad del grano, aunque no tanto la producción.

La corrección de esta deficiencia se ha intentado en varias formas. Muller (49) las agrupa en tres características: a) aplicaciones foliares, b) inyecciones en el tronco, y c) aplicaciones al suelo.

Las aplicaciones foliares no han tenido el resultado apetecido (11, 54, 48), puesto que bajo condiciones normales los compuestos de hierro no penetran fácilmente la cutícula foliar (48). Además, el hierro presenta la característica de ser inmóvil dentro de la planta, de tal manera que al hacerse las aplicaciones foliares pudiera tener lugar cierto efecto benéfico solamente en las hojas asperjadas. Pero cuando vienen nuevos brotes, éstos muestran otra vez la clorosis por la falta de traslado del hierro (61). A consecuencia se necesita una mayor frecuencia en las aplicaciones, lo que es poco económico.

Fernández (18), trabajando ácido triiodobenzoico y urea, combinados con aplicaciones de sulfato ferroso, no logró aumentos en la absorción o movilidad del hierro. Jiménez (32) tampoco ob-

tuvo resultados muy halagueños al trabajar con **el** mismo ácido.

Igue (30) utilizó hierro radiactivo en plantas jóvenes de café, el cual aplicado a los cotiledones, fue en parte trasladado hacia las raíces.

Robinson (63) sugirió la aplicación de sulfato ferroso en forma de píldoras en el tallo, mediante la hechura de agujeros en el tronco de la planta. Pero esta operación ejecutada en gran escala resulta demasiado onerosa y peligrosa para las plantas tratadas debido al debilitamiento y la propensión para futuras infecciones.

Las aplicaciones de sulfato ferroso al suelo tampoco han resultado ser de gran futuro, tal como la constataron Fernández (19) y Robinson (61). Medcalf y Lott (47) empleando pequeñas cantidades de quelatos, encontraron un control adecuado de la clorosis, lo cual concuerda con investigaciones efectuadas por Steward y Leonard (72) en cítricos, en Florida. Sin embargo, la factibilidad del uso de los quelatos queda disminuida por su alto costo.

Con los métodos anteriormente expuestos se aprecia que la corrección de la deficiencia de hierro en el cafeto no se ha logrado hasta el día de hoy en forma eficiente y económica, principal fin del investigador y del caficultor.

El dimetil sulfóxido (DMSO)

Desde 1964, año en el cual Jacob, Bischel y Herschler (31)

describieron la propiedad del DMSO de penetrar con facilidad las membranas orgánicas, esta sustancia se ha visto abocada a una constante investigación, existiendo más de mil reportes científicos publicados y un simposio (39).

El DMSO es un compuesto derivado de la lignina con propiedades químicas y biológicas poco usuales. Es un líquido incoloro, casi inodoro, altamente polar y miscible en todas las proporciones con el agua, alcoholes, cetonas y solventes, aunque no con los alifáticos (43). También muchos compuestos inorgánicos con rápidamente disueltos en el DMSO (69).

MacGregor (53) hizo una revisión bastante completa de la literatura existente en las propiedades físicas y químicas del DMSO, en la cual se describe que la molécula de dicha sustancia posee una estructura piramidal con los átomos de azufre, oxígeno y carbono en sus esquinas, siendo esta estructura y los enlaces azufre-oxígeno responsables de las poco usuales características del DMSO.

Rammler y Zaffaroni (59) hicieron una serie de implicaciones biológicas basadas en las propiedades químicas del DMSO. Entre estas está su propiedad de atravesar barreras proteínicas sin aparente o poco daño para los tejidos, lo cual se debe a su enlace con el agua en forma de hidrato, que provoca cambios reversibles en la configuración de las proteínas por la sustitución del agua por el DMSO.

Smale (79) agrupó las propiedades del **DMSO** de acuerdo con el uso agrícola en a) acción solvente de amplio espectro; b) capacidad de penetrar fácilmente membranas vivas con poco o ningún daño permanente de tejidos y aumento de la absorción de pesticidas y nutrientes; c) efectos modificantes en el crecimiento vegetal; y d) supresión de la actividad de los síntomas virosos.

Norris y Freed (50) encontraron que en aplicaciones foliares de 2-4-5 T (ácido 2-4-5 triclo-rofenoxiacético) en 100% de DMSO sobre plantas pequeñas de arce se logró un incremento en la absorción del herbicida.

Los herbicidas dicamba (2-metoxi-3,6-ácido diclorobenzoico), picloram (4-amino-3,5-6-ácido cloropicolínico) y el 2-4-5-T exhibieron mayores actividades en Prosopis juliflora al aplicárseles en 50% y 100% de DMSO (29). Una serie de especies de malas hierbas fueron inhibidas en su crecimiento por un espacio de meses cuando se les aplicó una mezcla de 2-4-D y picloran con DMSO (36). Un marcado incremento (76%) en las actividades tanto del diquat como del paraquat se notó cuando se les adicionó un 30% de DMSO (25).

Keil y Smale (33, 34 y 35) en diferentes estudios obtuvieron control significativo de la mancha bacteriana del melocotón (Xanthomonas pruni) cuando se mezcló el antibiótico oxitetraciclina con el DMSO. Bean (3) usando el DMSO al 3% en conjunto con varios fungicidas contra Helminthosporium, determinó aumentos

de un **30%** en la actividad de estos fungicidas.

Sean (3), empleando 500 ppm de DMSO con 6-mercapto-purina o 6-metilpurina sobre Fragaria vesca, infectada con un tipo de virus patógeno, **logró** eliminar los síntomas por 7 y 11 meses respectivamente después de ser tratados **las** plantas. Pine (55) observó la supresión de los síntomas del virus PMV del melocotón y del virus NRSV como resultante de la inyección del DMSO. Esto **se** experimentó inoculando sepas severas de PMV y NRSV en las yemas, las cuales también fueron inyectadas con **0,5 ó 1,0 M** de DMSO. La sintomatología típica del virus del mosaico del tabaco (TMV) en varios hospederos por la mezcla previa a la inoculación del virus con 0,05-1,0% de DMSO (56).

Sciutchetti (65) notó que el DMSO alteró el metabolismo de cuatro especies de Datura, con aumentos en la concentración de alcaloides. En otra ocasión un cinco por ciento del DMSO **inhibió** la iniciación y desarrollo del tubo polínico (15). También fue inhibida la síntesis del ácido nucleico por **el DMSO** (27) semillas de *Phaseolus vulgaris*, *Pisum sativa*, *Hordeum vulgare* y *Secale cereale* fueron colocadas en placas de Petri y expuestas a varias concentraciones de DMSO en agua destilada **por** diferentes tiempos de incubación; **se** notó que la toxicidad del DMSO fue más evidente en el crecimiento de las plúmulas y raíces y no tanto sobre **el** porcentaje de germinación mismo. En este trabajo se recomendó el uso deb DMSO

a concentraciones no mayores del 0,1% debido a sus efectos fitotóxicos sobre las plantas (16).

Whatley et al. (77), trataron tres variedades de *Ipomoea batata* con DMSO logrando aumentar el número de brotes y acelerar su crecimiento.

Estes, citado por Smale (17), obtuvo incrementos estadísticamente significativos en la producción de la papa, al sumergir las "semillas" antes de la siembra en una solución de 5% de DMSO por un tiempo de treinta minutos, lo cual resultó en un mayor número de brotes por tubérculo. Plantas pequeñas de peral, melocotón, manzano y cerezo fueron inyectadas en sus tallos con preparaciones conteniendo 100 ppm de DMSO. Se obtuvo un rápido traslado a de los acaricidas citovirina, ciclohexamida y estreptovitacina A(26). Los insecticidas keltane, gutión, lindano, dieldrin, DDT, paratión, malatión y endosulfan fueron trasladados más efectivamente a las hojas de plantitas de melocotón cuando a éstas se les inyectó DMSO (69).

Olinger y Keer (51), usando DMSO como solvente para el carbaril, lograron aumentar el efecto de este producto sobre el insecto *Epilachna varivestis* M., aunque el DMSO en dosis de 100 ppm y 1000 ppm no tuvo efecto aparente en la absorción radical, traslado y toxicidad del oxidemetón-metil, disulfotón y demetón en algodón que crecía en soluciones nutritivas. La interacción

de estas sustancias con el DMSO se midió por su efecto en el ácaro *Tetranychus tumidus* B., colocadas en el follaje.

Una combinación de DMSO y el surfactante diotilsulfosuccinato de sodio (Vatsol OT) coadyuvaron en la penetración de hierro en hojas de aguacate (44). Esta combinación permitió una mayor síntesis de clorofilas en hojas cloróticas. Al aplicarse el DMSO con Sequestrene 138 en el suelo se obtuvieron también magníficos resultados.

Leonard (40), empleando el DMSO, logró un marcado efecto sobre la penetración de hierro en hojas cloróticas de cítricos. En este trabajo los resultados mejores y más rápidos se consiguieron cuando las hojas fueron asperjadas o sumergidas en una solución conteniendo un dos por ciento de DMSO. Estes, citado por Smale (17), haciendo tres aplicaciones foliares de 100 ppm de DMSO a plantas de papa y frijol, consiguió incrementos significativos en los niveles de calcio y manganeso en las hojas terminales. De esto se sugiere que el DMSO ejerce un efecto directo en la movilidad de estos elementos.

Garren (21), utilizando 0,055% de DMSO, observó que la absorción de ^{32}P fue mayor en raíces de plantas de fresa cultivadas tanto en soluciones nutritivas como en el suelo. Cuando el DMSO se agregó a la solución nutritiva no se lograron aumentos en la absorción ^{65}Zn y ^{54}Mn por plantas de frijol (17).

El DMSO en concentraciones de 1 a 10% estimuló la absorción de zinc por raíces partidas de cebada, aunque en las mismas concentraciones disminuyó la absorción de sodio y rubidio (66).

E Erdman y Hsieh (16) cultivaron plantas de *Phaseolus vulgaris*, *Pisum sativa*, *Hordeum vulgare* y *Secale cereale* en una solución nutritiva Hoagland modificada, a la que se le añadieron diferentes concentraciones de DMSO con el objeto de estudiar el efecto sinérgico del DMSO en la absorción de calcio, magnesio potasio y fósforo. Ellos encontraron una correlación directa en la absorción de estos elementos con los tratamientos, tiempo y concentraciones de DMSO.

El DMSO penetra tanto los tejidos foliares como caulinares rápidamente aun sin la ayuda de algún surfactante (74, 61, 76). Pero el movimiento dentro de las plantas es mayor por la adición de surfactantes no iónicos, tales como Tween-20 y Triton X-100. Smale (69) aplicó en la base del tallo de plantas de melocotón de seis meses de edad una solución al 10% de DMSO.

Marcado con ^{35}S con la adición de Tritón, plantas sin el Tritón sirvieron de control. Al cabo de veinticuatro horas se detectó una cantidad cuarenta veces mayor de DMSO absorbida y trasladada a las hojas encima del área tratada con Tritón X-100 que cuando no se añadió este producto.

Debido a las propiedades de penetración y transporte del DMSO deben tenerse precauciones cuando se le esté manipulando en mezcla con sustancias tóxicas (69).

lugar, según Sułowski
temperatura media anual 22,5°C; pr

precipitación media anual 7581,3 mm, e iluminación solar por día 4 horas
minutos.

La investigación consistió de dos ensayos, uno en el campo y otro
en el invernadero de fisiología vegetal, además de una serie de
pequeñas pruebas con el fin de determinar las dosis adecuadas
de DMSO a usar.

La parte experimental se inició en septiembre de 1979 y se
terminó en abril de 1980.

Pruebas Preliminares:

Se realizaron de aplicaciones de DMSO y varias concentraciones
en una cuarentena de hojas de café cloróticas en el campo para observar
si habían resultados positivos o no.

También, se usaron concentraciones de DMSO en las hojas...

MATERIALES Y METODOS

Esta investigación se realizó en **los** terrenos e invernaderos del CEI del Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, en Turrialba, Costa Rica.

Las características climatológicas del lugar, según Budowski y Shreuder (8), son las siguientes: temperatura media anual 22,5°C; precipitación media anual 2581,3 mm. e iluminación solar por día 4 horas 33 minutos.

La investigación constó de dos ensayos, uno en el campo y otro en el invernadero de Fisiología Vegetal, además de una serie preliminar de pequeñas pruebas con el fin de determinar las dosis adecuadas de DMSO a usar.

La parte experimental se inició en setiembre de 1969 y se terminó en abril de 1970.'

Pruebas Preliminares:

Consistieron de aplicaciones de DMSO y varios compuestos de hierro en unas cuantas hojas de café cloróticas en el campo para observar si habían resultados positivos o no.

También, se usaron concentraciones de DMSO en las dosis de 2, 4, 6, 8 y 10%, manteniéndose una inspección constante con el objeto

de encontrar el nivel óptimo a usar. En estas aplicaciones se usó un adherente ("Super Stick". Marca de la casa Abonos Superior, San José, Costa Rica, a base de hidrocarburos.) al 0,08%, dividiéndose los tratamientos en plantas con y sin adherente.

Experimento de campo

Este ensayo se localizó en un área que mostraba una cantidad grande de plantas cloróticas. El diseño experimental utilizado fue un irrestricto al azar con 13 tratamientos, cada uno con tres plantas por repetición, lo que dio un total de 39 plantas.

(Los tratamientos empleados aparecen en el Cuadro N°1).

Cuadro 1. Identificación de los tratamientos del experimento de campo.

NUMERO	TRATAMIENTO
	Sulfato ferroso, concentración de 250 ppm, de hierro.
	Sulfato ferroso, concentración de 500 ppm de hierro.
3	Citrato férrico, concentración de 250 ppm de hierro.
4	Citrato férrico, concentración de 500 ppm de hierro.
5	Versene, quelato, concentración de 250 ppm de hierro.
6	Versene, quelato, concentración de 500 ppm de hierro.
7	Sulfato ferroso, concentración de 250 ppm de hierro en 2 % de DMSO.
8	Sulfato ferroso, concentración de 500 ppm de hierro en 2 % de DMSO.
9	Citrato férrico, concentración de 250 ppm de hierro en 2 % de DMSO.
10	Citrato férrico, concentración de 500 ppm de hierro en 2 % de DMSO.
11	Versene, quelato, concentración de 500 ppm de hierro en 2 % de DMSO.
12	Versene, quelato, concentración de 500 ppm de hierro en 2 % de DMSO.
13	Testigo.

Había un testigo general que recibió solamente una aplicación de una solución de agua con el adherente al 0,08%. Debe señalarse que todos **los** tratamientos llevaban el adherente mencionado en la proporción de 0,08%.

Los tratamientos fueron aplicados con una bomba portátil de un litro de capacidad. Se asperjaron varias bandolas con hojas cloróticas, marcadas previamente con pintura; el resto de la planta sirvió para comparación.

Antes de las aplicaciones se tomaron muestras de hojas para determinar el hierro total, hierro soluble y contenido de clorofilas.

Un mes después se recogieron en la misma forma muestras foliares para la determinación de hierro total, soluble y contenido de clorofilas para comprobar cualquier efecto.

Experimento de invernadero.

Para la ejecución de este ensayo se utilizaron **56** plantas de café de un año de edad, de la variedad Cioccié, cultivadas en bolsas de polietileno negro. **Se** les lavó muy cuidadosamente la tierra de **sus** raíces y las plantas se trasladaron a frascos de vidrio de un galón de capacidad. **Los** primeros quince días estuvieron **sólo** en agua, para eliminar cualquier vestigio de tierra o materia orgánica en descomposición. A continuación se substituyó el agua en cada frasco por

una solución nutritiva Hoagland N° 2, sin hierro, preparada de acuerdo con lo indicado por Hoagland y Arnon (28). Se forraron por fuera los frascos con bolsas de polietileno negro para evitar la formación de algas en la solución nutritiva. Cada frasco estaba provisto de una manguera pequeña para permitir una aeración constante de la solución, por medio de un compresor automático.

Las soluciones nutritivas fueron renovadas cada veinte días, manteniéndose mientras tanto el nivel normal por adiciones periódicas de agua destilada.

Con el objeto de evitar un posible ataque de escamas se mantuvieron las mesas, donde estaba montado el ensayo, desinfectadas con clordano al 10%.

Aproximadamente a las tres semanas de estar las plantas en la solución Hoagland N° 2, se manifestó la clorosis típica de las hojas nuevas, que caracteriza la deficiencia de hierro en el cafeto. Además estas hojas cloróticas tenían un tamaño mayor que el normal.

Antes de iniciar el experimento se esperó un tiempo prudencial para que la deficiencia se uniformara en todas las plantas, seleccionándose luego treinta y tres de ellas, uniformes en tamaño y en la presentación de los síntomas de la deficiencia de hierro. Las demás plantas se eliminaron por presentar una enfermedad, no identificada, en sus raíces que causó detrimento en su desarrollo.

Las plantas seleccionadas fueron ordenadas en un diseño experimental irrestrictamente al azar, con 11 tratamientos y tres plantas por repetición.

Cada fuente de hierro utilizada como tratamiento se empleó en la dosis de 500 ppm de hierro elemental: además, todos los tratamientos tenían un 0,08% del adherente "Super Stick". Los tratamientos utilizados se presentan en el Cuadro N° 2.

Cuadro 2. Identificación de los tratamientos del experimento de invernadero.

1. Sulfato ferroso ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) en 2% de DMSO	A ₁	A ₂	A ₃
2. Sulfato ferroso ($\text{FeSO}_4 - 7\text{H}_2\text{O}$)	B ₁	B ₂	B ₃
3. Sulfato férrico de amonio ($\text{Fe}(\text{NH}_4)(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) en 2% DMSO	C ₁	C ₂	C ₃
4. Sulfato férrico de amonio ($\text{Fe}(\text{NH}_4)(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	D ₁	D ₂	D ₃
5. Sulfato ferroso de amonio ($\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) en 2% DMSO	E ₁	E ₂	E ₃
6. Sulfato ferroso de amonio ($\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	F ₁	F ₂	F ₃
7. Citrato férrico ($\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) en 2% de DMSO	G ₁	G ₂	G ₃
8. Citrato férrico ($\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	H ₁	H ₂	H ₃
9. Versene (quelato) en 2% de DMSO	I ₁	I ₂	I ₃
10. Versene (quelato)	J ₁	J ₂	J ₃
11. Testigo	K ₁	K ₂	K ₃

Estos tratamientos fueron aplicados en forma de aspersiones por medio de una bomba atomizadora a presión, de un litro de capacidad. Antes se cubrieron bien los frascos para evitar la contaminación de las soluciones nutritivas. Previo a las aplicaciones se tomaron mu

Métodos de análisis químico de las muestras vegetales.

Para la determinación de hierro soluble de las muestras foliares, **se** molió el material fresco en morteros de porcelana con la adición de un poco de arena de cuarzo pura. Una vez que la muestra estaba completamente triturada, se agregaron **30 ml.** de una disolución de etilendiaminotetra-acetato (EDTA, sal disódica) al **2%**. Después de mezclar cuidadosamente por un período de **30 segundos**, se procedió a filtrar, utilizando un filtro Buchner a succión y papel de filtro cuantitativo (Whatman Nº1). El filtrado se recogió y se evaporó a baja temperatura hasta que quedó ligeramente húmedo. Después se sometió a la oxidación con una mezcla de ácidos nítrico-perclórico en la proporción de **5:1 (78)**. La cantidad de esta mezcla adicionada a cada muestra, fue de **10 ml.** Una vez terminada la digestión, **los** cristales resultantes fueron disueltos con agua caliente y se llevó a un volumen de **25 ml.**

Para la determinación de hierro total se pesó por duplicado un gramo de la muestra seca, molida y homogenizada, y se sometió a la digestión nítrica-perclórica, igual que en el caso anterior, pero llevándose a un volumen de **50 ml.**

Después de obtenidos los extractos se procedió a la determinación del contenido de hierro soluble y total, para lo cual se empleó el método de la *O*-fenatrolina (52,53).

Métodos de análisis químico de las muestras vegetales.

Para la determinación de hierro soluble de las muestras foliares, se molió el material fresco en morteros de porcelana con la adición de un poco de arena de cuarzo pura. Una vez que la muestra estaba completamente triturada, se agregaron 30 ml. de una disolución de etilendiaminotetra-acetato (EDTA, sal disódica) al 2%. Después de mezclar cuidadosamente por un período de 30 segundos, se procedió a filtrar, utilizando un filtro Buchner a succión y papel de filtro cuantitativo (Whatman N°1). El filtrado se recogió y se evaporó a baja temperatura hasta que quedó ligeramente húmedo. Después se sometió a la oxidación con una mezcla de ácidos nítrico-perclórico en la proporción de 5:1 (78). La cantidad de esta mezcla adicionada a cada muestra, fue de 10 ml. Una vez terminada la digestión, los cristales resultantes fueron disueltos con agua caliente y se llevó a un volumen de 25 ml.

Para la determinación de hierro total se pesó por duplicado un gramo de la muestra seca, molida y homogenizada, y se sometió a la digestión nítrica-perclórica, igual que en el caso anterior, pero llevándose a un volumen de 50 ml.

Después de obtenidos los extractos se procedió a la determinación del contenido de hierro soluble y total, para lo cual se empleó el método de la O-fenatrolina (52,53).

Para la determinación de las clorofilas se molieron los discos de material foliar en morteros de porcelana, agregando una pequeña cantidad de arena de cuarzo. El material molido se depositó sobre un filtro de vidrio fundido, insertado en un frasco Buchner, para filtrar con succión. Se extrajo repetidas veces con una cantidad total de 40 ml, de alcohol etílico de 95%, acidificado. Se efectuó la acidificación para hacer todas las determinaciones de las clorofilas en forma de feofitinas, pues hojas de café deficientes en hierro tienen una reacción ácida, lo que hace imposible la extracción de las clorofilas sin que se produzca su alteración. Por último se tomó el filtrado y se completó a un volumen final de 40 ml. Los extractos se guardaron en frascos de vidrio en la oscuridad para las determinaciones en el espectrofotómetro. Para efectuar las lecturas se usaron 10 ml de los extractos de las muestras en un espectrofotómetro marca Coleman modelo Junior 6A, a una longitud de onda de 665 mμ. Como patrón se utilizó un extracto obtenido en la misma forma, con un mayor número de discos de hojas muy verdes, concentración que correspondió más o menos a la de una hoja verde normal. A este extracto se le dio un valor de 100 %; luego se hicieron una serie de diluciones (50-25-12,5-6,3-3,1-1,6%) para trazar una curva de calibración. Por medio de esta curva se calcularon los valores para las diferentes muestras. Estos valores obtenidos son relativos y sirven solamente para establecer comparación entre las diferentes muestras.

Técnicas empleadas para la interpretación de los resultados.

En los dos experimentos realizados se evaluaron estadísticamente los análisis químicos de las muestras, o sea, los valores de hierro total y soluble, expresados en ppm, y los de las clorofilas en la forma de feofitinas como porcentajes. En un principio se intentó efectuar los análisis estadísticos en base a incrementos, que fueron el resultado de las diferencias obtenidas entre los datos de antes de aplicar los tratamientos y después de aplicarlos; pero no se registraron diferencias significativas. Por tal razón, se decidió hacer estos análisis en base a los resultados obtenidos después de aplicados los tratamientos.

RESULTADOS

En este capítulo se presentan los resultados de los experimentos de campo y de invernadero y sus respectivos análisis estadísticos.

Experimento de Campo

Hierro soluble

En el Cuadro 3 se muestran los datos de hierro soluble resultantes del análisis químico de las muestras de material foliar fresco, expresados en ppm.

Cuadro 3. Contenido de hierro soluble de las hojas en materia fresca, expresado en ppm, Experimento de campo.

Tratamientos	I	II	III	Total	X
1*	13	15	9	37	12,33
2	20	11	9	40	13,33
3	7	9	9	25	8,33
4	13	9	14	36	12,00
5	18	9	8	35	11,66
6	9	11	9	29	9,66
7	8	9	9	26	8,66
8	8	15	15	38	12,33
9	9	15	14	38	12,33
10	9	11	13	33	11,00
11	14	14	5	33	11,00
12	11	9	8	28	9,33
13	11	8	14	33	11,00

*Ver identificación de los tratamientos en el Cuadro 1.

Cuadro 4. Análisis de la variación de hierro soluble, hierro total y contenido de clorofilas de las hojas. Experimento de campo.

Fuente de variación	C. M.			
	G.L.	Hierro soluble ppm	Hierro total ppm	Contenido clorofila %
Tratamiento	12	595,23 ^{ns}	6.036,15**	40,96
Error	26	12,67	558,81	28,16
Total	30			
C. V.		32%	22%	29%

Al ser sometidos estos datos de hierro soluble al análisis de la variación (Cuadro 4) no se registraron diferencias significativas entre los tratamientos, o sea que los diferentes tratamientos no lograron incrementar estadísticamente el contenido de hierro soluble en las plantas tratadas con respecto al testigo.

Hierro total

Los datos de hierro total obtenidos del análisis químico del material foliar seco se presentan en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Contenido de hierro total de las hojas, en materia seca, expresado en ppm. Experimento de campo.

Tratamientos	REPETICIONES			Total	\bar{X}
	I	II	III		
1	60	96	113	269	89,66
2	195	180	163	538	179,33
3	113	96	104	314	104,66
4	205	96	138	439	146,33
5	55	73	69	198	66,00
6	58	74	98	231	77,00
7	103	118	104	326	108,66
8	168	205	175	548	182,66
9	140	96	133	369	123,00
10	154	110	150	414	138,00
11	108	56	50	214	71,33
12	54	69	50	174	58,00
13	23	58	65	147	49,00

Al aplicarse el respectivo análisis de la variación (cuadro 4) a los anteriores datos se determinaron diferencias altamente significativas entre tratamientos. Esto significa que los diferentes

tratamientos ensayados produjeron aumentos estadísticamente significativos en el contenido de hierro total en las plantas tratadas.

Para identificar cuales de los tratamientos se mostraron superiores entre ellos, se hizo uso de la prueba de Duncan (Cuadro 11 del Apéndice). De dicha prueba se apreció que el tratamiento a base de sulfato ferroso en la concentración de 500 ppm de hierro y con un dos por ciento de DMSO exhibió el mayor contenido de hierro total. Muy de cerca en un mismo grupo estadístico, estaban el sulfato ferroso y el citrato férrico, ambos en la concentración de 500 ppm de hierro. En otro grupo estadístico, pero bastante cercano al anterior, se presentó el citrato férrico en la concentración de 500 ppm de hierro, con dos por ciento de DMSO.

En la Figura 1 se puede observar como los tratamientos con el DMSO y a base de sulfato ferroso en las concentraciones de 250 y 500 ppm de hierro, el citrato férrico en la concentración de 250 ppm de hierro y el versene en la concentración de 500 ppm de hierro mostraron mayores contenidos de hierro total. Los tratamientos a base de citrato férrico y versene, ambos en la concentración de 500 ppm de hierro y sin DMSO, dieron mayores índices de hierro total que los respectivos tratamientos con DMSO. Los tratamientos con DMSO superiores en contenido de hierro total fueron el sulfato ferroso en las concentraciones de 250 y 500 ppm de hierro, el citrato férrico y el versene, ambos en la concentración de 250 ppm de hierro.

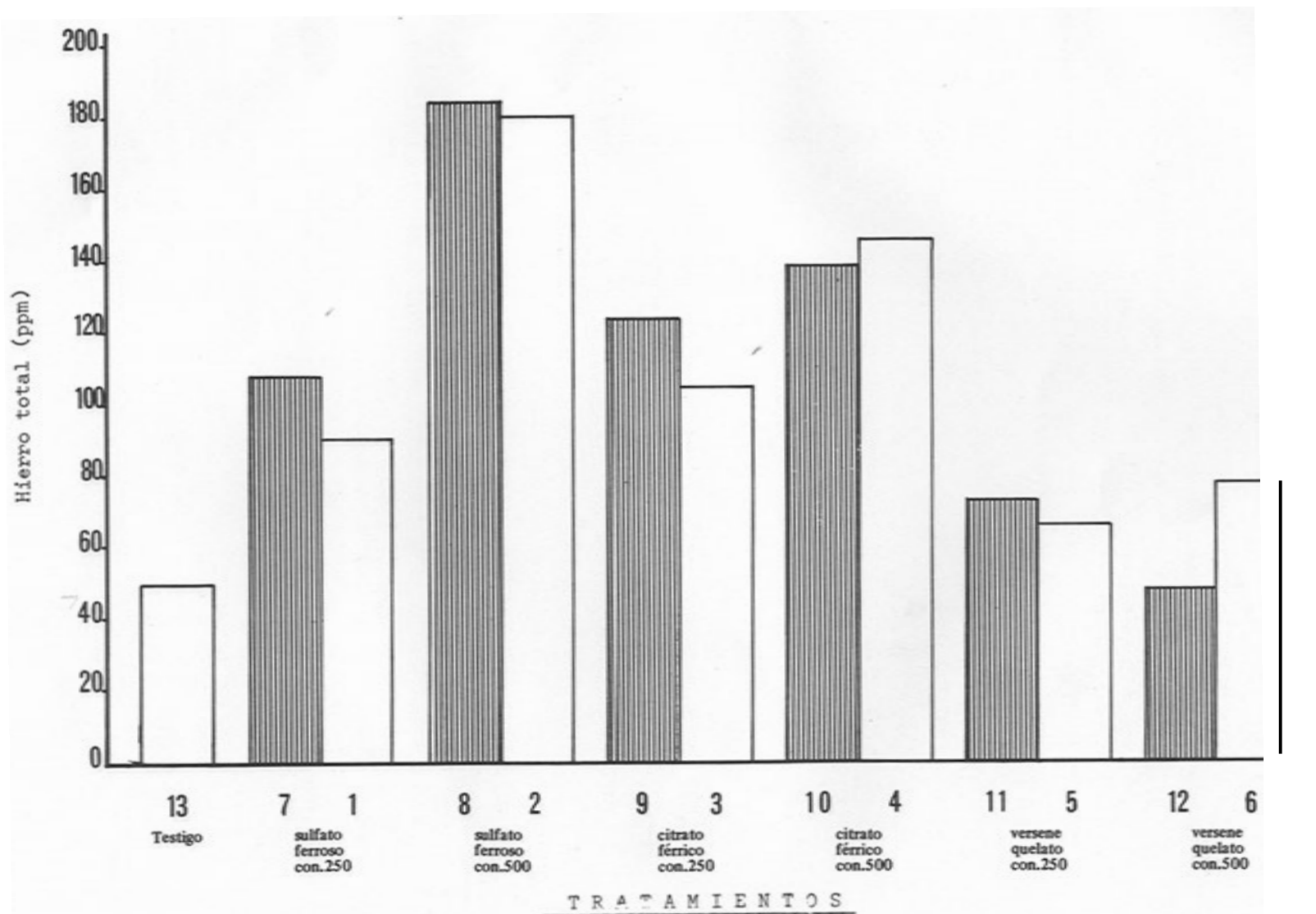


Figura 1. Efecto de los diferentes tratamientos en el contenido de hierro total de las hojas. Experimento de campo.

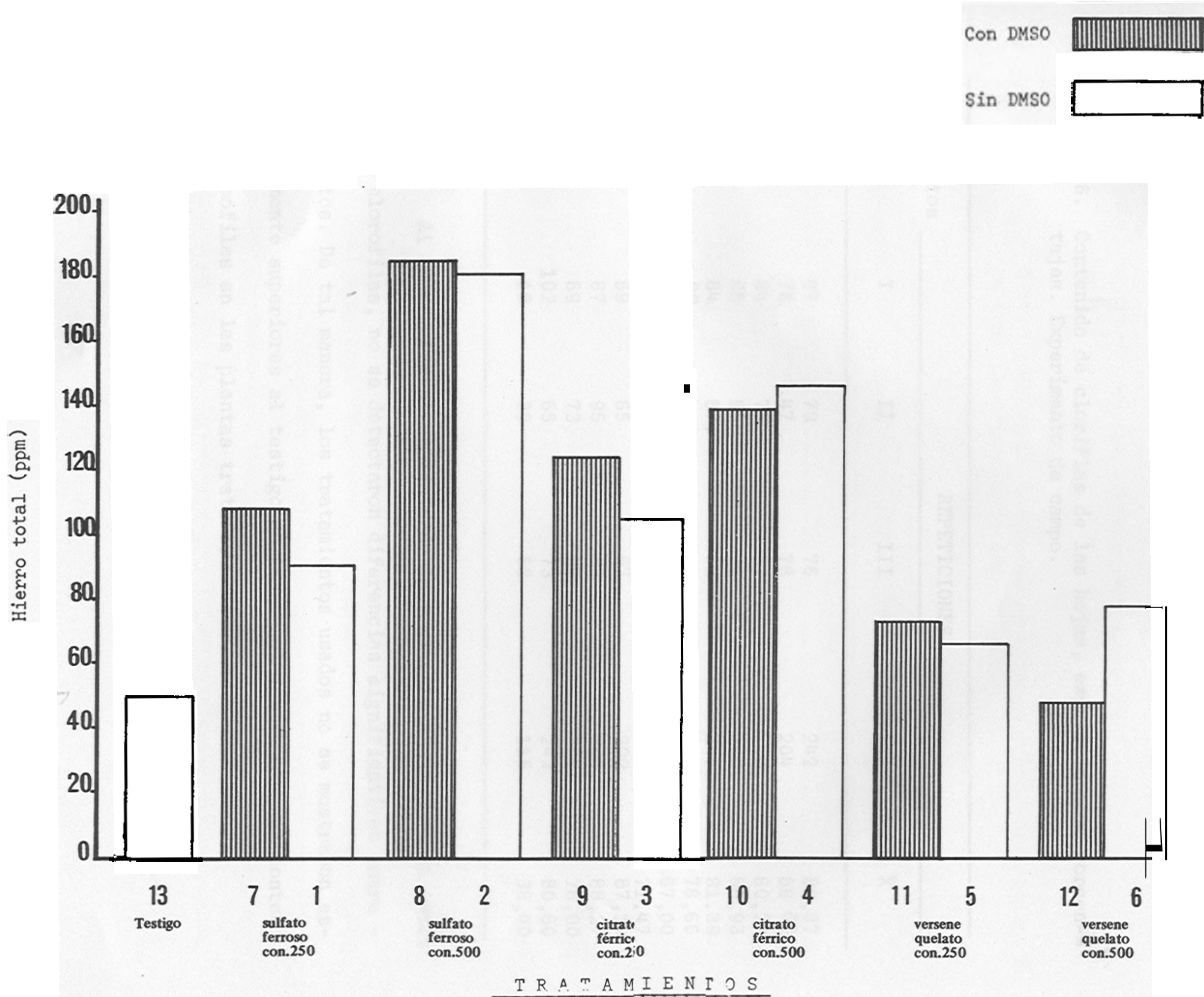


Figura 1. Efecto de los diferentes tratamientos en el contenido de hierro total de las hojas. Experimento de campo.

Contenidos de clorofilas.

Los contenidos de clorofilas expresados como porcentajes aparecen en el Cuadro 6.

CUADRO N°6. Contenido de clorofilas de las hojas, expresado como porcentajes. Experimento de campo.

Tratamientos	REPETICIONES				
	I	II	III	Total	\bar{X}
1	87	79	76	242	80,87
2	78	47	78	204	68,00
3	84	74	82	240	80,27
4	86	95	79	260	86,93
5	84	87	93	245	81,39
6	92	74	69	535	78,66
7	44	67	89	201	67,00
8	69	71	74	215	71,47
9	69	65	67	202	67,10
10	87	95	82	264	88,27
11	69	73	90	234	78,00
12	102	65	73	242	80,60
13	18	38	58	115	38,40

Al efectuarse el análisis de la variación (Cuadro 4) de estos datos de clorofilas, no se detectaron diferencias significativas entre tratamientos. De tal manera, los tratamientos usados no se mostraron estadísticamente superiores al testigo en cuanto al incremento del contenido de clorofilas en las plantas tratadas.

Experimento de invernadero.

Hierro soluble

Los datos resultantes del análisis químico del material foliar fresco, expresados en ppm aparecen en el Cuadro 7.

Cuadro 7. Hierro soluble de las hojas en materia fresca, expresados en ppm. Experimento de invernadero.

Tratamientos	REPETICIONES			Total	\bar{X}
	I	II	III		
1*	14	8	8	30	10,00
2	9	8	3	20	6,66
3	8	9	8	25	8,33
4	6	5	11	22	7,33
5	5	6	9	20	6,66
6	8	14	8	30	10,00
7	9	9	15	33	11,00
8	9	8	13	30	10,00
9	5	3	3	11	3,66
10	8	3	8	19	6,33
11	6	14	5	25	8,33

* Ver identificación de los tratamientos en el Cuadro 2.

Al someterse estos datos al análisis de la variación (Cuadro 8) no se registraron diferencias significativas entre tratamientos. En síntesis, los tratamientos a base de los diferentes compuestos de hierro con el DMSO y sin él, no interaccionaron significativamente para producir un aumento de hierro soluble, en las plantas tratadas al comparárselas con las plantas testigos.

Cuadro 8. Análisis de la variación de hierro soluble, hierro total y contenido de clorofilas de las hojas. Experimento de invernadero.

Fuentes de variación	C. M.			
	G.L.	Hierro soluble ppm	Hierro total ppm	Contenido Clorofilas %
Tratamientos	10	13.70 ^{ns}	3.012,57**	67,312**
Error	22	9.53	1.125,35	13,984
Total	32			
C.V.		38%	48%	38%

Hierro total

En el Cuadro 9. aparecen los resultados del análisis químico del material foliar seco, expresado en ppm.

Cuadro 9. Hierro total de las hojas, en materia seca, expresado en ppm. Experimento de invernadero.

Tratamientos	REPETICIONES				
	I	II	III	Total	\bar{X}
1	60	178	88	327	109,00
2	98	54	84	236	78,66
3	58	71	54	183	61,00
4	57	37	38	132	44,00
5	163	69	53	285	95,00
6	113	54	55	223	74,33
7	89	73	142	305	101,66
6	110	78	130	318	106,00
9	22	15	35	72	24,00
10	35	18	79	133	44,33
11	20	30	21	71	23,66

De acuerdo con el análisis de la variación de dichos datos (Cuadro 8) se obtuvieron diferencias significativas entre tratamientos.

Al aplicarse la prueba de Duncan (Cuadro 12 del Apéndice), los tratamientos que resultaron ser superiores en cuanto al incremento de hierro total en las plantas tratadas fueron el sulfato ferroso con DMSO, que exhibió el mayor contenido de hierro total; siguiéndole de cerca, pues estaban en el mismo grupo estadístico, el

citrato férrico sin DMSO y por último, el citrato férrico con DMSO. A pesar de que estos tratamientos dieron los valores mayores: no se mostraron significativamente diferentes a los tratamientos a base del sulfato ferroso de amonio con DMSO, sulfato ferroso sin DMSO, sulfato ferroso de amonio sin DMSO y sulfato férrico de amonio con DMSO. Los tres últimos tratamientos anteriormente citados en conjunto con el sulfato férrico de amonio sin DMSO, el versene sin DMSO, y el versene con DMSO, no dieron diferencias significativas con el testigo.

En la figura 2 se nota que todos los tratamientos con DMSO presentaron siempre valores mayores que el testigo. Los tratamientos en base a sulfato ferroso, sulfato férrico de amonio y sulfato ferroso de amonio, todos con el DMSO, tenían mayores contenidos de hierro total que los respectivos tratamientos sin el DMSO. El tratamiento a base del citrato férrico con DMSO, a pesar de ser ligeramente inferior al tratamiento respectivo sin el DMSO, presentó un valor alto que lo catalogó entre los tres tratamientos que exhibieron valores mayores de hierro total.

Contenido de clorofilas.

Los resultados del análisis del contenido de clorofilas de las hojas expresados en forma de porcentajes, parecen en el Cuadro 10.

Al efectuarse el análisis de la variación (Cuadro 10) de estos datos se detectaron diferencias altamente significativas entre tratamientos.

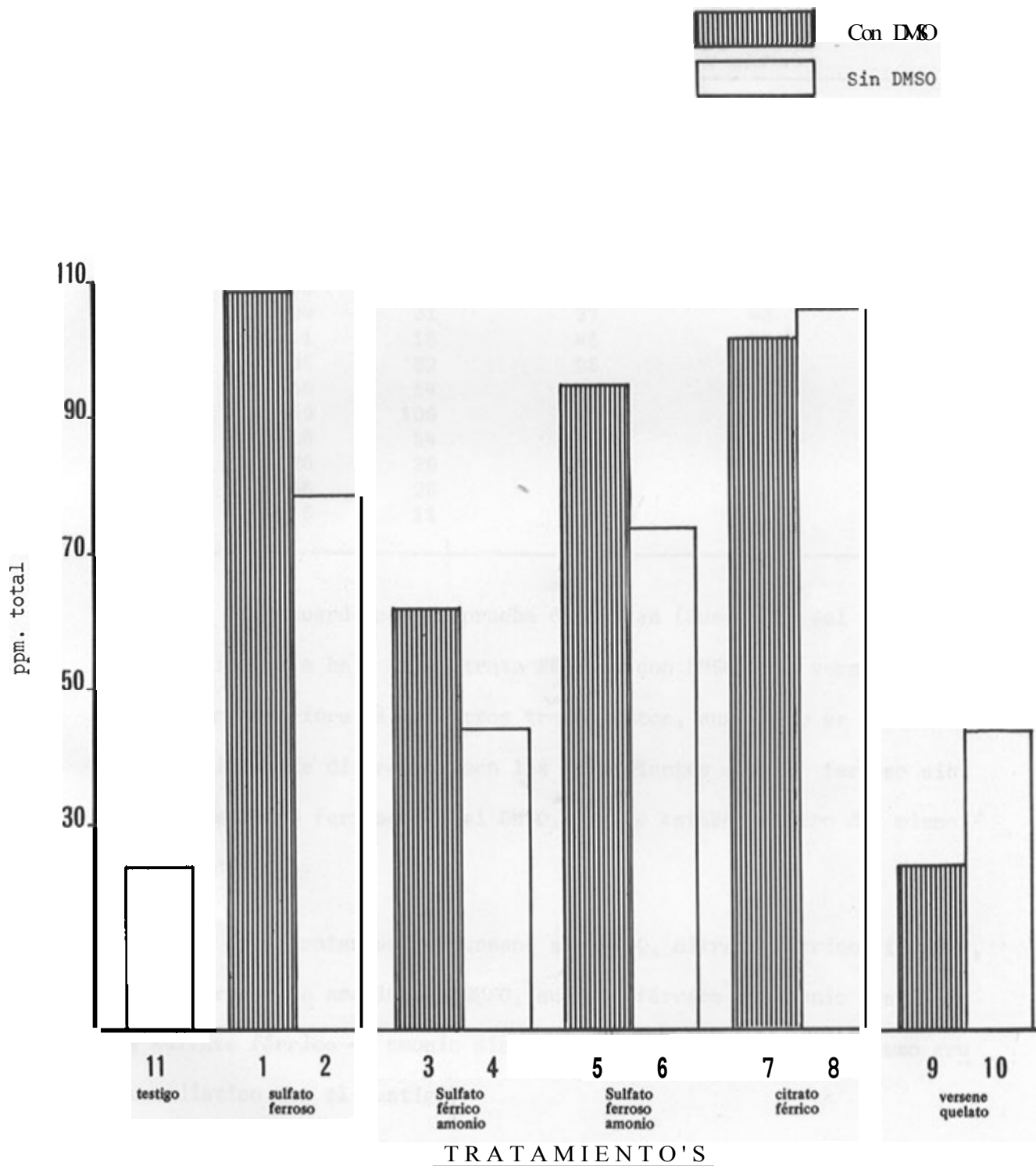


Figura 2. Efecto de los diferentes tratamientos en el contenido de hierro total de las plantas tratadas del experimento de invernadero.

Cuadro 10. Contenido de clorofilas de las hojas, expresado como porcentaje. Experimento de invernadero.

Tratamientos	REPETICIONES				
	I	II	III	Total	\bar{x}
1	38	50	34	123	41,00
2	63	50	43	156	52,00
3	24	31	37	43	31,00
4	11	16	46	73	24,53
5	35	32	25	92	30,99
6	56	54	45	155	51,79
7	59	106	36	203	67,00
8	18	54	23	95	31,57
9	26	26	52	105	35,00
10	36	28	95	159	53,00
11	6	11	9	26	8,69

De acuerdo con la prueba de Duncan (Cuadro 12 del Apéndice), los tratamientos a base del citrato férrico con DMSO y el versene sin DMSO fueron superiores a los otros tratamientos, aunque no se mostraron significativamente diferentes con los tratamientos sulfato ferroso sin DMSO y el sulfato ferroso con el DMSO, porque estaban dentro del mismo grupo estadístico.

Los tratamientos versene sin DMSO, citrato férrico sin DMSO, sulfato ferroso de amonio sin DMSO, sulfato férrico de amonio con DMSO, y el sulfato férrico de amonio sin DMSO, se presentaron en el mismo grupo estadístico con el testigo.

En la figura 3 se puede observar que los tratamientos sulfato-

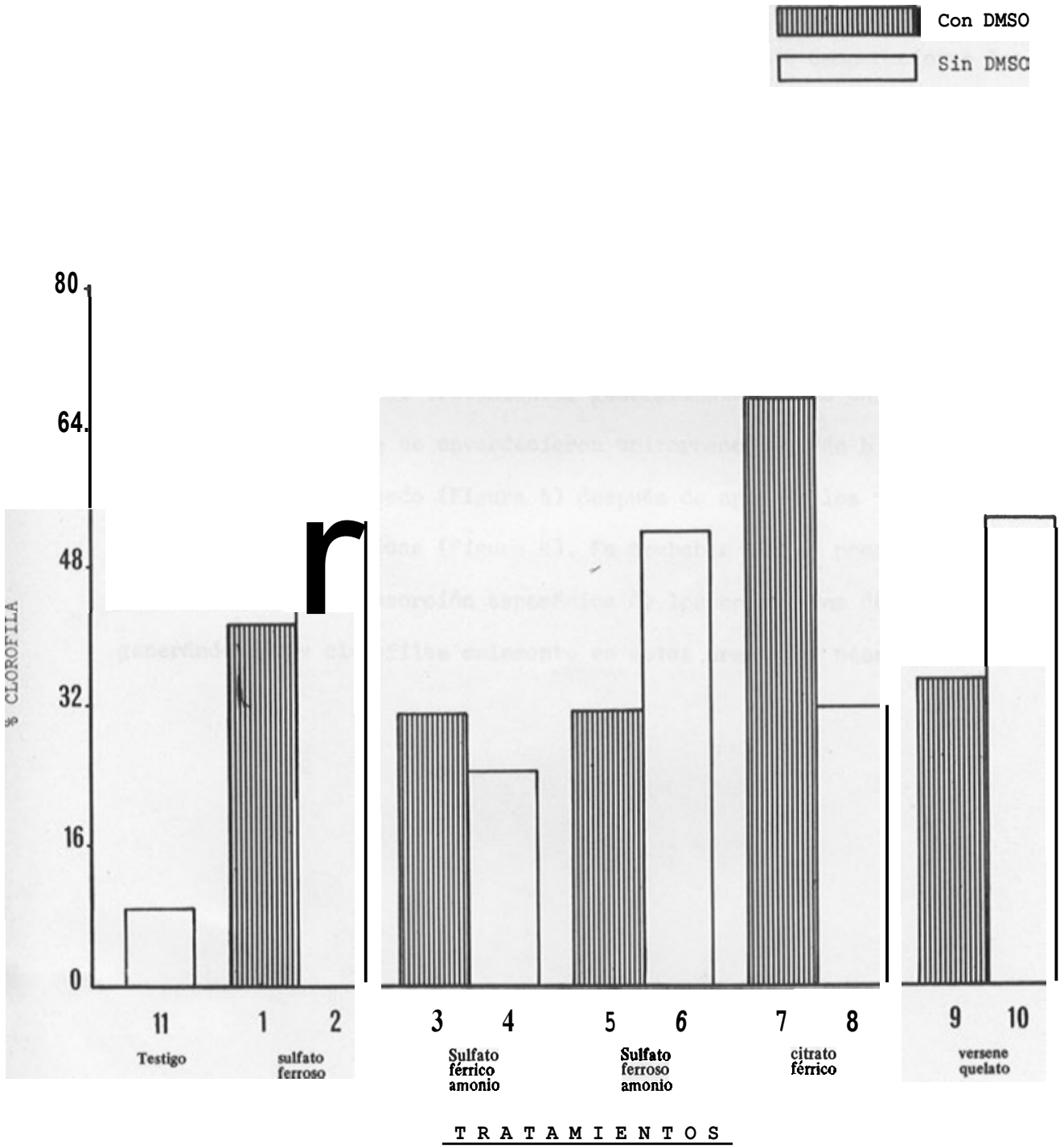


Figura 3. Efecto de los diferentes tratamientos en el contenido de clorofilas de las plantas tratadas del experimento de invernadero.

to férrico de amonio y el citrato férrico, ambos con DMSO, presentaron mayores contenidos de clorofilas en las plantas tratadas que los respectivos tratamientos sin el DMSO. En el resto de las comparaciones los tratamientos sin el DMSO dieron mayores valores en el contenido de clorofilas. El tratamiento a base del citrato férrico con el DMSO exhibió el mayor incremento en el contenido de clorofilas que todos los otros tratamientos.

Al efectuarse los análisis de clorofilas no se tomó en cuenta que el efecto de los tratamientos generalmente no fue uniforme, o sea, que las hojas no se enverdecieron Uniformemente. Más bien, se observó siempre un moteado (Figura 5) después de aplicar los tratamientos a plantas cloróticas (Figura 4). Es probable que la poca uniformidad se debía a una absorción esporádica de los compuestos de hierro, generando las clorofilas solamente en estas áreas del mesófilo.





FIGURA 4

Cafeto deficiente en hierro (Testigo). Se notan las hojas jóvenes completamente cloróticas.



FIGURA 5

Cafeto unos veinte días después de recibir el tratamiento 1 (Sulfato de hierro, 500 ppm + 2% DMSO). Se nota la corrección parcial (moteado) de la clorosis en las hojas jóvenes.

DISCUSION

La evaluación del dimetil sulfóxido (**DMSO**) como agente penetrante y de transporte para el hierro aplicado foliarmente se efectuó a través de dos experimentos, uno en el campo y otro bajo las condiciones de control de un invernadero.

Experimento de campo

Bajo las condiciones de campo, **el DMSO se** estudió en base de mezclas con diferentes compuestos de hierro en comparación con **los** mismos tratamientos pero sin el **DMSO**. Las variables que se utilizaron para la evaluación de este experimento fueron el hierro soluble y **t** total en ppm y el contenido de clorofilas en porcentaje de las **plan -** **t**as tratadas **obtenidas de los análisis químicos.**

No se logró incrementar el contenido de hierro soluble en las plantas tratadas, **las** cuales presentaron valores muy bajos y en promedio no sobrepasaron **11 ppm**. De acuerdo con la literatura (1) **va** **lores de 38 ppm** o menores corresponden a un estado de deficiencia. **Por** consiguiente, a la hora de la recolección del material foliar **pa** **ra los** respectivos análisis químicos, o sea al **terminarse** el experimento, dichas plantas estaban totalmente deficientes de hierro, con valores **ínfimos**, muy por debajo de **los** indicados en la literatura. Esto significa que el dimetil sulfóxido no interaccionó con **los dife** **rentes** compuestos de hierro en el incremento del contenido de hierro soluble de las plantas bajo tratamiento. En cierta forma, estos re -

sultados concuerdan con **los** obtenidos por Leonard (40), quien encontró valores de hierro foliar inconsistentes, si **se** les comparaba con **el** contenido de clorofilas de las hojas.

En cuanto al **hierro total**, **el** dimetil sulfóxido **si** aumentó este valor en la planta, cuando **se** le utilizó en mezcla con **el** sulfato ferroso en las concentraciones de 250 y 500 ppm de hierro. Dichos tratamientos indujeron concentraciones mayores de hierro total que **los** tratamientos con **los** mismos compuestos de hierro, pero sin el DMSO. Además, se destaca el hecho **que** el tratamiento a base de sulfato ferroso en la concentración de 500 ppm de hierro con un dos por ciento de dimetil sulfóxido presentó el valor más alto de hierro total. Tal evidencia **es** importante puesto que este compuesto de hierro **es** de bajo costo y fácilmente asequible en forma comercial. Quizás en **el** futuro a base de una investigación de mayor detalle y amplitud, **se** podría llegar a una fórmula práctica y económica para corregir la deficiencia de hierro en **el** café.

Los promedios de hierro total de cada uno de **los** tratamientos estudiados fueron altos en **su** mayoría, con un promedio general de 106 ppm, valor que clasifica a dichas plantas dentro del rango de normales (42 y 48). Estos valores altos de hierro total concordaron con **los** de clorofilas, **que** también fueron altos. A pesar de esto, no se comprobaron diferencias entre estos contenidos de clorofilas e inclusive el testigo presentó un valor relativamente alto. La falta de

respuesta en este caso de las clorofilas ante tratamientos se podría deber a factores incontrolables, tales como el clima y el suelo. Se ha podido observar que la deficiencia de hierro se manifiesta en los cafetales cuando no hay precipitación e imprevistas temperaturas altas, Condiciones idénticas regían en los días que antecedieron al montaje del experimento en el campo. Por esta razón el área experimental escogida tenía un número grande de plantas con las características típicas de la deficiencia de hierro. Pero se pudo notar que esta deficiencia se desvanece totalmente cuando se presentaban lluvias constantes durante varios días seguidos, que fue el caso durante este experimento. Cuando llegó el momento indicado para recoger las muestras foliares para efectuar la evaluación respectiva del ensayo, se habían presentado en los días inmediatamente anteriores una serie de lluvias, y se consideró que en cierta forma afectaron los resultados, principalmente los contenidos de las clorofilas. La información meteorológica pertinente aparece en los Cuadros 13, 14 y 15 del Apéndice.

De lo anteriormente expuesto, se deduce que es necesario investigar en qué forma los elementos climáticos o del suelo interaccionan sobre la disponibilidad del hierro tanto en el suelo como en la planta.

Experimento de invernadero.

Para controlar en cierta forma estos factores adversos, se diseñó y montó el ensayo de invernadero, con las plantas creciendo

en soluciones nutritivas

En este experimento **los** tratamientos tampoco mostraron respuestas diferenciales con respecto al hierro **soluble**. Será tal vez necesario modificar **la** solución nutritiva en cuanto a su contenido **de** fosfatos, para determinar **si** afectan o no al hierro **soluble** dentro de la planta.

En **el** caso del hierro total, **el** dimetil sulfóxido en conjunto con el sulfato ferroso, **logró** incrementar el contenido a tal punto que presentó el valor más alto con 108 ppm. cifra que hace pasar **el** nivel en dichas plantas sobre el normal con , respecto al contenido de hierro total. Esta concentración contrastó con los valores del testigo, las que fueron bastante bajas, **y** por consiguiente, deficientes de hierro. El férrico, con y sin el dimetil sulfóxi-**do** mezclado en el sulfato ferroso de amonio incrementó, mayormente el contenido **de** hierro total en relación a **los** respectivos tratamientos sin el dimetil sulfóxido. Se aprecia aquí de nuevo que el dimetil sulfóxido **en** combinación con ciertos compuestos de hierro aumenta los contenidos de hierro total. Similarmente al ensayo de campo, el sulfato ferroso con el dimetil sulfóxido se mostró superior a otros tratamientos, hecho de suma importancia como ya se señaló.

Cuando se evaluó el dimetil sulfóxido en base al contenido de clorofilas se observaron mayores incrementos en combinación con **el** citrato férrico que con **los** otros compuestos de hierro. Po-

siblemente se debe este hecho a que la planta lo aprovecha con más facilidad por estar en forma orgánica. También el sulfato ferroso con el dimetil sulfóxido dio aumentos significativos en el contenido de clorofilas.

En resumen, se puede decir que esta evaluación del dimetil sulfóxido comprobó que esta sustancia sí es funcional como agente penetrante para el hierro cuando se le mezcló con el sulfato ferroso y el citrato férrico en la concentración de 500 ppm de hierro para ambos casos. Si se obtuvieron aumentos en el contenido de hierro total y en el contenido de clorofilas, pero no así con el hierro soluble.

Es necesario indicar que cuando se produjeron brotes nuevos en las plantas tratadas con el dimetil sulfóxido, éstos tenían un ligero color clorótico, pero eran más verdes que en las plantas sin el dimetil sulfóxido, cuyos brotes eran totalmente amarillo-blancuzcos.

El dimetil sulfóxido con sus propiedades únicas abre nuevas posibilidades de investigación no sólo con el hierro sino con otros microelementos en el café. Así por ejemplo se podría utilizar en combinación con diferentes radioisótopos y determinar hasta dónde llegan sus propiedades de penetrabilidad y transporte para diferentes elementos, ya sea aplicado foliarmente o al sistema radi-

cal. No se sabe si contribuye en la nutrición del azufre cuando es metabolizado por las plantas, hecho que se podría estudiar usando azufre^{35S}. También mezclado con diferentes compuestos de hierro se podrían hacer aplicaciones al suelo para determinar sus efectos sobre la clorosis en el cafeto, etc. Existen otras posibilidades de un uso futuro del dimetil sulfóxido para obtener beneficios para la agricultura tropical.

,

.

CONCLUSIONES

- 1) El dimetil sulfóxido no logró interaccionar en conjunto con los distintos compuestos **de** hierro utilizados en **el** contenido de hierro soluble de las plantas tratadas, tanto en **el** experimento de campo como en **el** de invernadero.
- 2) El dimetil sulfóxido **en** combinación con el sulfato ferroso; el citrato férrico y el versene respectivamente **aumentó** **el** contenido de hierro **total** de las plantas **tratadas** en **el** experimento de campo.
- 3) El dimetil sulfóxido no **interaccionó** con los diferentes compuestos de hierro sobre el contenido **de** clorofilas de las plantas tratadas en el experimento **de** campo.
- 4) Los resultados de los contenidos de clorofila en las plantas **tratadas** no dieron respuestas positivas porque **la** disponibilidad del hierro, tanto en el suelo como en la planta, fue afectada por factores del clima y del suelo.
- 5) El dimetil sulfóxido en mezcla con el sulfato ferroso y el citrato férrico respectivamente, **logró** incrementar el **conte**nido de hierro total en las **plantas** **tratadas** en el **experimen**to de invernadero.
- 6) El dimetil sulfóxido **en** combinación con el citrato férrico y el sulfato ferroso respectivamente, **aumentó** **el** contenido de clorofilas **en** las plantas tratadas en el experimento **de** invernadero.

RESUMEN

El dimetil sulfóxido, sustancia de propiedades poco usuales como solvente, agente penetrante y de transporte fue evaluado en el presente trabajo para averiguar sus efectos sobre la absorción de hierro, mezclándose con diferentes compuestos de este elemento y aplicándolo, en plantas de café con deficiencias de hierro.

Se realizaron dos ensayos, uno bajo condiciones de campo y el otro en el invernadero.

En el experimento de campo se utilizaron varios compuestos de hierro, todos en las concentraciones de 250 y 500 ppm de hierro elemental. Estos compuestos fueron el sulfato ferroso, el sulfato ferroso de amonio, el sulfato férrico de amonio, el citrato férrico y el versene. Los tratamientos aplicados corresponden a soluciones de estos compuestos de hierro con y sin el dimetil sulfóxido en la proporción de un dos por ciento.

En el ensayo de invernadero se provocó la deficiencia de hierro en plantas de café, al colocarlas en una solución nutritiva de Hoagland, pero sin hierro. Cuando la deficiencia estuvo muy desarrollada y uniforme se aplicaron los diferentes tratamientos de acuerdo al diseño. Los compuestos de hierro fueron el sulfato ferroso, el citrato férrico y el versene, todos en la concentración de 500 ppm de hierro. Estos compuestos se aplicaron con el dimetil sulfóxido en un dos por ciento y sin él.

Tanto en el experimento de campo como en el de invernadero se adicionó un adherente en un 0,08% en cada uno de los tratamientos.

La evaluación del efecto del dimetil sulfóxido con los diferentes compuestos de hierro se hizo a través de los resultados de hierro soluble, hierro total y contenido de clorofilas de las plantas tratadas, mediante el análisis químico cuantitativo.

Se pudo constatar en esta investigación que el dimetil sulfóxido en combinación con los diferentes compuestos de hierro no logró aumentar el contenido de hierro soluble en las plantas tratadas en ambos experimentos.

El sulfato ferroso, el citrato férrico y el versene en conjunto con el dimetil sulfóxido lograron aumentar el contenido de hierro total en las plantas tratadas. Mientras que el sulfato ferroso y el citrato férrico provocaron aumentos significativos en ambos ensayos, el versene sólo tuvo efecto en el experimento de campo.

En el ensayo de campo los distintos compuestos de hierro con y sin el dimetil sulfóxido, no lograron aumentar estadísticamente el contenido de clorofilas en las plantas tratadas. Pero en el ensayo de invernadero el dimetil sulfóxido interaccionó con el sulfato ferroso y el citrato férrico, incrementando el contenido de clorofilas de las plantas tratadas.

Both in the field and greenhouse experiments, an 0.08% sticker was added in each of the treatments.

The evaluation of the effect of the dimethyl sulfoxide with the different iron compounds was made by means of the results of soluble iron in plants, by quantitative chemical analysis.

In this investigation it was established that dimethyl sulfoxide combined with the different iron compounds did not increase the soluble iron content in the treated plants in both experiments.

Ferrous sulphate; ferric citrate and versene, together with dimethyl sulfoxide increased the contents of total iron in the treated plants. While the ferrous sulphate and the ferric citrate caused significant increases in both experiments, the versene had effect only in the field experiment.

In the field experiment, the different iron compounds with and without the dimethyl sulfoxide did not cause a statistical increase in the chlorophyll contents of the treated plants. But in the greenhouse experiment, the dimethyl sulfoxide interacted with the ferrous sulphate and the ferric citrate, increasing the chlorophyll contents of the treated plants.

LITERATURA CITADA

- - ALVAREZ, R. con la deficiencia de hierro en Turrialba, Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, 1964. 53 p.
2. BAEYENS, J. Groupe du fer. ~~in~~ Baeyens, J. Nutrition des plantes de culture. Lovaine, E. Nauwelerts, 1967. pp. 241-245.
 3. BEAN, G. A. The use of dimethyl sulfoxide (DMSO) with certain fungicides for controlling *Helminthosporium* diseases for Kentucky Bluegrass. *Plant Disease Reporter* 49(10):810-811. 1965.
 4. BIDDULPH, O. y WOODRIDGE, C. G. The uptake of phosphorus by beans with particular reference to the effects of iron. *Plant Physiology* 27(3):431-444. 1952.
 5. BOLLE-JONES, E. W. The interrelationships of iron and potassium in the potato plant. *Plant and Soil* 6(2):129-173. 1955.
 6. BROWN, J. C. Iron chlorosis. *Annual Review of Plant Physiology* 7:171-190. 1956.
 7. _____, HOLMES, R. S. y TIFFIN, L. C. Hypothesis concerning iron chlorosis. *Soil Science Society of America Proceedings* 23(3):231-234. 1959.
 8. BUDOWSKI, G. y SCHREUDER, G. The climate at Turrialba. *IICA Communications from Turrialba* no. 68. 1962. 36 p.
 9. BURNHAM, B. F. y LASCELLES, J. Control of porphyrin biosynthesis through a negative-feedback mechanism. *Biochemical Journal* 87(2):462-472. 1963.
 10. BURTON, L. M., THORNE, D. W. y WANN, F. B. The effect of light, soil temperature and soil moisture on light-lime chlorosis. *Soil Science Society of America Proceedings* 13(4):394-398. 1948.
 11. COSTA, A. S. y FRANCO, C. M. A virus technique useful to diagnose foliar deficiencies. *Plant Physiology* 26(5):625-628. 1951.
 12. CULOT, J. L. ~~et al.~~ Contribution a l'etude des deficiences minerales du caféier d'arabica au Kivu. Institut National pour l'etude Agronomique du Congo Belge. Serie Scientifique no. 73. 1958. 105 p.

13. CHAVERRI, G. y CARVAJAL, J. F. Síntomas de deficiencias de los elementos fósforo, calcio, azufre e hierro en el café producido en invernadero. San José, Ministerio de Agricultura e Industrias-STICA, Laboratorio Químico de Investigaciones Agronómicas. Informe Técnico no. 8. 1959. 14 p.
14. DE KOCK, P. C. Iron nutrition of plants at high pH. *Soil Science* 79(3):167-175. 1955.
15. DICKINSON, D. B. y COCHRAN, D. Dimethyl sulfoxide-reversible inhibitor of pollen tube growth. *Plant Physiology* 43(3):411-416. 1968.
16. ERDMAN, H. E. y HSIEH, J. J. S. Dimethyl sulfoxide (DMSO) effects on four economically important crops. *Agronomy Journal* 61(4):528-530. 1969.
17. ESTES, G. O. The influence of dimethyl sulfoxide (DMSO) on growth and uptake of nutritive elements in *Phaseolus vulgaris* L. and *Solanum tuberosum* L. Thesis. Oregon State University, 1969. 116 p. (Original no consultado. citado en *Sulphur Institute Journal* 5(3):2-6. 1969).
18. FERNANDEZ, C. E. The effect of triiodobenzoic acid, urea and Fe in correcting Fe chlorosis in coffee. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* 77:236-239. 1961.
19. _____. Deficiencia de hierro en los cafetos. *Revista Cafetalera (Guatemala)* 1(9):9-10. 1962.
20. FRANCO, C. M. y MENDES, H. C. Síntomas de deficiencias minerais, no caféiro. *Bragantia* 9(9-12):165-173. 1949.
21. GARREN, R. Uptake and distribution of labeled dimethyl sulfoxide and its influence on nutritive element transport in plants. *Annals of the New York Academy of Sciences* 141(1):127-130. 1968.
22. GODDARD, D. R. Cytochrome C and cytochrome oxidase from wheat germ. *American Journal of Botany* 31(5):270-276. 1944.
23. GRANICK, S. Iron metabolism in animal and plants. In Lamb, C. A., ed. *Trace elements*. New York, Academy Press, 1958. pp. 365-382.
24. HARLEY, C. P. y LINDNER, R. C. Observed responses of apple and pear trees to some irrigation waters of North Central Washington. *Proceedings of American Society for Horticultural Science* 46:35-44. 1945.

25. HART, W. J. y HURT, W. The influence of DMSO on the phytotoxicity of several herbicides. Proceedings of the Northeast Weed Control Conference 21:156-165, 1967.
26. HARRIES, F. H. Control of insects and mites on fruit trees by trunk injections. Journal of Economic Entomology 58(4):631-634. 1965.
27. HELLMAN, E., FARBER, J. G. y MARTIN, C. H. Some biological properties of dimethyl sulfoxide. Nature 213(5080):982-985. 1967.
28. HOAGLAND, D. R. y ARNON, D. I. The water-culture method for growing plants without soil. California Agricultural Experiment Station. Circular no. 347. 1950. 32 p.
29. FULL, A. M Dimethyl sulfoxide as a herbicide carrier under different conditions of light intensity. Proceedings of the Western Weed Control Conference 20:12. 1965.
30. IGUE, K. Reutilización del ⁵⁹Fe en café y cacao. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, 1963. 41 p.
31. JACOB, S., BISCHEL, M. G. y HERSCHLER, R. J. Dimethyl sulfoxide (DMSO): A new concept in pharmacotherapy. Current Therapy Research 6(2):134-135. 1964.
32. JIMENEZ, E. Some effects of 2,3,5-triiodobenzoic acid and indol-3-acetic acid on the absorption and distribution of iron by plants. Turrialba 15(4):265-374. 1965.
33. KEIL, H. V. Enhanced bacterial spot control of peach when dimethyl sulfoxide is combined with sprays of oxitetracycline. Annals of the New York Academy of Sciences 141(1):131-138. 1967.
34. _____, SMALE, B. C. y WILSON, R. A. Control of peach bacterial leaf spot with sprays of oxitetracycline plus dimethyl sulfoxide. (Abstract) Phytopathology 55(7):505. 1965.
35. _____, SMALE, B. C. y WILSON, P. A. Absorption, translocation and persistence of radiolabeled dimethyl sulfoxide applied as a foliar spray to peach trees. Phytopathology 57(7):646. 1967.

36. KEIL, H. L., SMALE, B. C. y WILSON, R. A. Accumulation of sulfur³⁵ in peaches sprayed with radiolabeled dimethyl sulfoxide. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 17(2):296. 1969.
37. KLIMAN, S. The importance of ferrous iron in plants and soils. *Soil Science Society of America Proceedings* 2(4):385-392. 1937.
38. LAPHAM, V. T. Effectiveness of some dimethyl sulfoxide-herbicide combinations. *Proceedings of the Southern Weed Conference* 19:38-42. 1966.
39. LEAKE, C. D. Biological actions of dimethyl sulfoxide. *Annals of the New York Academy of Sciences* 141(1):1-671. 1967.
40. LEONARD, C. D. Use of dimethyl sulfoxide as a carrier for iron in nutritional foliar sprays applied to citrus. *Annals of the New York Academy of Sciences* 141(1):148-158. 1967.
41. LINDSAY, W. L. y THORNE, D. W. Bicarbonate ion and oxygen level as related to chlorosis. *Soil Science* 77(4):167-175. 1954.
42. LOTT, W. L., MCCLUNG, A. C., DE VITA, R. y GALLO, J. R. Estudio de los cafetales de San Pablo y Paraná mediante el análisis foliar. IBEC Research Institute. Boletín no. 9. 1961. 72 p.
43. MACGREGOR, W. S. The chemical and physical properties of DMSO. *Annals of the New York Academy of Sciences* 141(1):3-12. 1967.
44. MALO, S. E. Promising methods for correcting iron chlorosis in avocados. A preliminary report. *Proceedings of Florida State Horticultural Society* 78:358-364. 1965.
45. MARSH, H. J., EVANS, H. y MATRONE, G. Investigations of the role of iron in chlorophyll metabolism. I. Effect of iron deficiency on chlorophyll and heme content and on the activities of certain enzymes in leaves. *Plant Physiology* 38(6):632-638. 1963.
46. MAYNE, W. W. Investigations on the nutrition of *Coffea arabica* L. *Planters Chronicle* 35(16):327-330. 1940.
47. MEDCALF, J. C. y LOTT, W. L. Metal chelates in coffee. IBEC Research Institute. Bulletin no. 11. 1956. 19 p.

48. MULLER, L. E. Algunas deficiencias minerales comunes en el café to (*Coffea arabica* L.). Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. Boletín Técnico no. 4. 1959. 41 p.
49. _____. Coffee nutrition. In Childers, N. F., ed. Temperate ti tropical fruit nutrition. New Jersey, Horticultural Publications Rutgers-State University, 1966. pp. 685-776.
50. MORRIS, L. A. y FREED, V. H. Dimethyl sulfoxide as an absorption and translocation aid. Western Weed Control Conference, Research Progress Report, 1963. pp. 85-86.
51. OLINGER, L. D. y KERR, S. H. Effects of dimethyl sulfoxide on the biological activity of selected miticides and insecticides. Journal of Economic Entomology 62(2):403-407. 1969.
52. PARKS, R. O. Quantitative chemical microdetermination of twelve elements in plant tissue. Industrial and Engineering Chemistry. Analytical Edition 158:527-533. 1943.
53. PEECH, M. y ENGLISH, L. Rapid microchemical soil test. Soil Science 57(1):167-196. 1944.
54. PEREZ, S. V. M. Algunas deficiencias minerales del café to en Costa Rica. Costa Rica. Ministerio de Agricultura e Industrias, Informe Técnico no. 2. 1957. 27 p.
55. PINE, T. S. Reactions of peach trees and peach tree virus to treatment with dimethyl sulfoxide and other chemicals. Phytopathology 57(7):671-673. 1967.
56. _____. Effect of dimethyl sulfoxide on tobacco mosaic. Plant Disease Reporter 53(1):61-63. 1968.
57. PORTER, L. K. y THORNE, D. W. Interrelation of carbon dioxide and bicarbonate ion in causing plant chlorosis. Soil Science 79(5):373-382. 1955.
58. PRICE, C. A. Iron compounds and plant nutrition. Annual Review of Plant Physiology 19:239-248. 1968.
59. RAMMLER, D. H. y ZAFFARONI, A. Biological implications of DMSO based on a review of its chemical properties. Annals of the New York Academy of Sciences 141(1):13-23. 1967.

60. REUTHER, W. y SMITH, P. F. Seasonal changes in Valencia orange trees. I. Changes in leaf dry weight, ash and macronutrient elements. Proceedings of Florida State Horticultural Society 55:61-72. 1950.
61. ROBINSON, J. D. B. From deficiency control. The control of chronic iron deficiency in coffee (*Coffea arabica* L.) growing on localised native hut or cattle boma sites. Kenya Coffee 24(277):16-19. 1959.
62. _____. Amber beans. Kenya Coffee 25(291):91-93. 1960.
63. _____ y MITCHELL, H. W. The response of *Coffea arabica* L. to mulch, compost and nitrogen fertilizer in Tanganyika. Turrialba 14(1):5-14. 1964.
64. ROGERS, C. H. y SHIVE, J. W. Factors affecting the distribution of iron in plants. Plant Physiology 7(2):227-252. 1932.
65. SCHMID, W. E. On the effects of DMSO in cation transport by excised barley roots. American Journal of Botany 55(7):757-761. 1968.
66. SCIUCHETTI, L. A. The effects of DMSO alone and when combined with various growth regulators and metabolic products of *Datura* spp. Annals of the New York Academy of Sciences 141(1):139-147. 1967.
67. SIMONS, J. et al. Absorption of chelated iron by soy bean roots in nutrient solutions. Plant Physiology 37(4):460-466. 1962.
68. S'JACOB, J. C. Investigaciones sobre la fisiología de la nutrición del *Coffea arabica* L. Revista del Instituto del Café de Costa Rica 12(91):207-209. 1942.
69. SMALE, B. C. DMSO, agricultural solvent, penetrant-carrier, antiviral agent. Sulphur Institute Journal 5(3):2-6. 1969.
70. SMITH, P. F. y SPECHT, A. W. Heavy-metal nutrition and iron chlorosis of citrus seedlings. Plant Physiology 28(2):371-382. 1963.
71. SOMERS, J. J. y SHIVE, J. W. The iron-manganese relation in plant metabolism. Plant Physiology 17(4):582-601. 1942.

72. STEWARD, I. y LEONARD, C. I Use of chelates in citrus production in Florida. *Soil Science* 84(1):89-97. 1957.
73. SYLVAIN, P. G. Report on the "marly" beans condition of market coffee in Jamaica due to the iron deficiency. Inter-American Institute of Agricultural Sciences. Report no. 49. 1961. 17 p.
74. THORNE, D. W., WANN, F. B. y ROBINSON, W. Hypothesis concerning lime-induced chlorosis. *Soil Science Society of America Proceedings* 15(2):254-258. 1951.
75. VAN NOORT, D. y WALLACE, A. Iron and chlorophyll synthesis. *California Apiculture* 19(8):4-5, 1956.
76. WADLEYGH, C. H. y BROWN, J. W. The chemical status of bean plants afflicted with bicarbonate-induced chlorosis. *Botanical Gazette* 113(4):373-392. 1952.
77. WHATLEY, B. T., THOMPSON, S. O. y MAYES, M. The effects of dimethyl sulfoxide and 3-indolebutyric acid on plant production of three varieties of sweetpotatoes. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* 92:523-525. 1968.
78. WILSON, h. E. Analysis of citrus tissues. Florida Agricultural Experiment Station. Progress Report 340. 1940, 16 p.

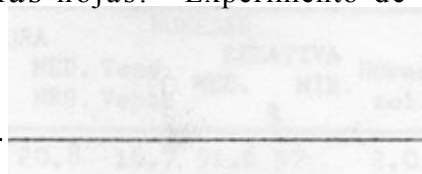
A P E N D I C E

Cuadro 11. Prueba le Duncan del contenido de hierro total de las hojas.
Experimento de campo.

Tratamientos	Medias
8	182,66 ^{a*}
2	179,33 ^{ab}
4	146,33 ^{abc}
10	138,00 ^{bc}
9	123,00 ^{cd}
7	108,66 ^{cde}
3	104,66 ^{cde}
1	89,66 ^{def}
6	77,00 ^{ef}
11	71,33 ^{ef}
5	66,00 ^{ef}
12	58,00 ^f
13	49,00 ^f

* Los tratamientos con igual letra están dentro del mismo grupo.

Cuadro 12. Prueba de Duncan de los contenidos de hierro total y clorofilas de las hojas. Experimento de invernadero.



Tratamientos	Hierro total ppm	Clorofilas %
	a*	abc
1	109,00	41,00
	abc	ab
2	78,66	52,00
	abc	bcd
3	61,00	31,00
	bc	cd
4	44,00	24,33
	ab	bcd
5	95,00	30,99
	abc	ab
6	74,33	51,79
	a	a
7	101,66	67,00
	a	bed
8	106,00	31,57
	c	bcd
9	24,00	35,00
	bc	a
10	44,33	53,00
	c	d
11	23,66	8,66

*Los tratamientos con igual letra están dentro del mismo grupo.

Cuadro 13. Datos Meteorológicos, Observatorio de Turrialba, Mes de diciembre de 1969.

FECHA	PRECIPITACION 7 - 7 m.	TEMPERATURA		HUMEDAD				Horas sol	RADIACION cal/cm ²	EVAPO- RACION m.	PRES. ATMOS. 700+ mmHg.
		°C MAX.	°C MIN.	MED. HRS.	Tens. Vapor	RELATIVA MED.	MIN. e				
1	29.1	27.0	18.6	20.8	16.7	91.6	57	2.0	204	1.0	10.2
2	22.8	23.2	18.5	19.8	15.8	91.0	72	0.6	195	1.2	10.7
3	21.7	22.2	19.0	19.6	15.6	91.0	69	0.0	174	0.5	10.8
4	1.7	23.6	18.0	20.2	15.8	89.2	62	0.8	249	2.6	10.5
5	1.1	22.9	18.6	20.1	16.1	91.8	79	0.2	273	2.4	9.6
6	0.0	26.9	18.0	21.3	16.1	85.8	46	6.4	537	4.9	8.4
7	0.0	26.3	19.4	22.1	16.8	85.4	59	7.6	498	4.8	8.2
8	0.0	27.0	18.0	22.0	16.5	84.1	56	8.4	555	5.7	8.8
9	0.0	27.1	16.5	21.7	16.2	84.6	51	9.5	684	6.0	8.4
10	0.0	27.5	17.1	22.1	15.5	79.3	46	9.7	561	6.0	7.8
11	16.4	28.0	16.9	22.2	16.2	82.6	53	5.9	465	5.0	9.3
12	8.1	23.4	19.0	20.0	15.8	90.0	72	1.0	132	0.4	10.8
13	20.6	23.3	16.2	19.1	14.7	89.1	66	2.2	216	1.6	10.8
14	8.9	21.2	17.0	18.2	14.7	93.7	77	0.1	186	0.6	10.2
15	12.9	23.5	17.2	19.6	15.6	91.8	70	0.4	228	1.5	10.1
16	91.1	20.3	18.3	19.4	15.9	94.3	86	0.0	27	0.0	9.8
17	5.7	23.8	18.0	20.3	16.2	91.3	71	0.0	162	1.0	9.8
18	11.6	24.8	19.0	20.7	16.7	91.7	65	1.6	258	1.8	9.7
19	2.4	24.6	19.2	20.7	16.6	91.5	66	0.6	246	2.3	9.8
20	3.0	25.0	17.9	20.9	16.4	88.4	61	0.0	231	2.1	9.4
21	11.0	23.0	19.5	20.2	16.8	94.8	82	0.0	117	0.2	9.0
22	8.0	26.0	17.8	21.2	17.0	90.8	67	6.5	525	4.5	8.9
23	2.2	26.4	19.9	21.6	17.6	91.7	67	3.0	372	2.9	8.9
24	0.0	27.1	18.2	22.3	17.4	87.0	61	9.3	543	5.5	9.1
25	1.9	26.5	17.9	22.0	16.8	85.7	62	9.5	567	5.5	9.1
26	2.1	27.0	19.9	22.2	17.5	88.0	58	2.6	342	3.3	9.5
27	0.0	27.1	17.5	21.8	16.2	83.7	58	6.2	447	0.0	9.3
28	0.0	26.5	17.2	20.7	15.4	85.6	56	2.4	363	0.0	9.6
29	9.6	26.2	18.4	21.4	17.0	89.3	63	4.5	366	2.2	8.6
30	3.7	25.7	19.5	21.4	16.6	87.7	57	1.1	273	2.5	9.0
31	0.0	26.9	17.0	21.6	16.1	84.6	45	6.1	456	4.6	8.5
SUMAS	295.6	--	--	--	--	--	--	108.2	10.452	82.6	--
MEDIAS	9.53	25.2	18.2	20.9	16.3	88.6	63.2	3.49	337.16	2.66	9.4

Cuadro 1b. Datos Meteorológicos. Observatorio de Turrialba. Mes de enero de 1970

FECHA	PRECIPITACION 7 - 7 m.	TEMPERATURA				HUMEDAD RELATIVA		Horas sol	RADIACION cal/cm ²	EVAPO- RACION	PRES. ATMOS. 700+ mmHg.
		°C MAX.	°C MIN.	MED. HRS.	Tens. Vapor	MED. MED.	MIN. MIN.				
1	0.0	25.5	18.7	21.4	16.2	85.6	56	3.4	363	3.5	8.2
2	0.0	26.3	17.4	21.4	16.0	85.0	55	5.0	426	4.1	8.4
3	0.0	28.0	16.3	22.3	16.5	83.1	48	8.4	528	5.4	8.2
4	0.1	26.5	17.3	21.5	16.0	84.4	55	3.1	354	3.8	9.6
5	0.0	27.5	19.2	22.6	16.9	83.8	58	8.7	567	6.3	9.0
6	1.3	25.8	17.0	20.7	16.1	58.5	60	0.6	231	2.1	8.1
7	20.6	26.7	19.5	21.1	17.1	91.5	62	1.6	204	1.3	9.2
8	153.3	22.6	19.0	19.9	16.4	93.9	80	0.0	105	0.2	10.2
9	40.4	21.7	19.1	20.1	15.5	87.7	79	0.0	123	0.0	11.4
10	2.9	20.6	19.0	18.4	13.5	85.7	74	0.0	177	1.0	12.8
11	0.0	23.0	16.0	18.4	14.2	90.0	64	2.8	396	3.2	11.1
12	0.3	26.0	17.0	21.4	16.9	89.0	65	8.5	573	5.4	9.9
13	1.2	24.0	19.5	20.0	16.0	91.4	69	0.2	147	1.0	10.7
14	0.0	24.5	14.7	19.3	14.6	87.8	66	5.1	468	4.4	10.4
15	0.0	27.7	18.0	21.2	15.2	81.8	44	3.5	369	4.2	10.6
16	0.0	26.4	16.2	20.6	14.6	81.0	53	8.1	585	5.6	10.0
17	0.0	28.1	16.5	21.2	14.8	79.1	41	5.6	504	4.9	9.8
18	0.0	25.1	19.6	21.7	15.8	82.4	57	1.2	222	2.6	10.1
19	0.0	27.7	10.0	22.4	16.8	84.0	45	4.3	411	4.8	10.8
20	0.0	27.8	17.7	22.2	16.4	83.2	56	7.4	540	5.8	11.9
21	0.3	25.3	14.2	20.3	14.9	84.8	48	7.2	417	4.6	11.5
22	0.5	26.5	13.4	21.0	15.5	84.1	50	2.6	318	3.5	11.2
23	0.0	26.6	13.8	20.4	14.2	80.6	44	9.3	657	6.5	10.9
24	0.0	26.9	15.2	20.4	14.7	32.2	50	5.2	516	5.2	10.8
25	0.0	27.0	16.0	20.7	14.9	82.9	51	6.1	459	4.5	10.7
26	0.0	27.2	14.8	21.2	14.7	79.9	51	9.4	615	7.0	10.0
27	7.6	25.2	17.6	21.0	16.2	87.5	62	1.2	267	2.2	9.1
28	10.3	23.6	20.0	21.1	17.1	91.6	75	0.1	162	0.7	9.8
29	0.0	27.0	18.2	21.7	16.4	84.9	59	7.4	531	5.3	9.8
30	0.0	27.1	17.9	21.4	16.3	86.5	57	7.0	558	5.5	10.7
31	0.0	27.4	17.0	21.0	14.4	79.7	47	8.9	630	6.7	11.7
Sumas	238.8	-	-	-	-	-	-	138.9	12.423	121.4	-
Prom.	7.67	25.8	17.4	20.9	15.6	85.2	60.7	4.48	400.74	3.91	10.2

Cuadro 15. Datos meteorológicos. Observatorio de Turrialba. Mes de febrero de 1970.

FECHA	PRECIPITACION 7 - 7 m.	TEMPERATURA		HUMEDAD				Horas sol	RADIACION cal/cm ²	EVAPO- RACION	PRES. ATMOS. 700+ mmHg.
		°C MAX.	°C MIN.	MED. HRS.	Tens Vapor	RELATIVA MED. %	MIN.				
1	0.0	27.1	15.7	20.7	14.7	81.3	52	6.6	564	5.7	10.2
2	0.0	27.2	17.7	22.0	15.7	80.5	50	8.3	642	6.5	8.9
3	9.6	27.3	17.2	22.2	15.9	80.2	56	7.3	630	6.8	3.8
4	67.2	20.2	18.8	18.9	15.0	91.5	82	0.0	222	0.0	11.5
5	51.9	21.6	17.6	19.1	15.5	93.1	84	0.0	237	0.3	11.2
6	3.5	23.2	17.5	19.6	15.0	88.6	71	2.9	327	2.6	9.9
7	32.0	22.3	17.7	19.2	15.5	93.0	77	0.1	243	0.6	9.6
8	9.9	21.0	18.1	18.8	15.2	93.4	82	0.0	222	0.6	10.4
9	8.9	23.5	16.6	19.1	14.7	89.2	67	2.3	390	3.5	11.5
10	44.3	19.4	16.7	17.8	14.5	94.9	87	0.0	156	0.0	12.5
11	19.6	20.8	17.0	18.4	14.9	94.2	87	0.1	171	0.2	11.6
12	25.2	22.9	18.0	19.9	16.4	93.9	81	0.0	135	0.1	9.6
13	56.7	22.5	20.0	20.8	16.9	91.9	82	0.0	105	0.0	8.8
14	1.3	27.0	19.2	21.8	17.1	87.7	65	3.6	429	3.4	8.8
15	1.1	26.1	19.4	22.2	17.6	88.5	64	2.9	363	4.3	8.7
16	0.4	27.5	20.2	22.3	18.1	90.3	61	4.3	423	3.7	9.5
17	28.3	22.6	19.8	20.2	16.9	95.1	78	0.1	216	0.9	10.9
18	0.5	25.2	17.8	20.5	16.5	92.1	59	0.6	291	2.4	10.5
19	1.2	25.7	17.0	20.7	15.6	86.2	59	2.3	354	3.7	10.0
20	1.1	26.7	17.5	20.0	15.1	87.3	52	5.2	492	3.9	11.3
21	2.6	26.8	14.4	19.1	14.1	86.4	49	3.5	372	3.5	12.1
22	3.7	27.7	17.2	20.6	15.2	85.4	47	3.4	348	3.5	11.5
23	0.0	25.2	16.7	20.7	15.4	84.9	56	4.9	432	4.4	11.6
24	9.9	25.2	18.3	20.6	15.6	87.0	57	0.2	279	2.6	11.2
25	0.0	23.7	16.7	19.8	15.1	87.8	64	1.1	342	3.4	10.8
26	0.2	24.0	17.8	20.2	14.8	84.5	61	1.5	315	2.8	11.0
27	0.0	26.2	13.9	19.5	13.7	82.0	46	5.1	525	5.2	10.8
28	0.0	26.7	14.7	18.9	12.7	80.1	48	4.4	426	4.4	10.9
Sumas	379.1	-	-	-	-	-	-	72.7	9.651	79.0	-
Med.	13.5	24.5	17.5	20.1	15.5	88.3	65.1	2.60	344.68	2.82	10.5